

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
6. Mai 2005 (06.05.2005)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 2005/040376 A3**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **C12N 15/10**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE2004/002386

(22) Internationales Anmeldedatum:  
22. Oktober 2004 (22.10.2004)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
103 50 474.5 23. Oktober 2003 (23.10.2003) DE

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): UNIVERSITÄT LEIPZIG [DE/DE]; Ritterstrasse 26, 04109 Leipzig (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): GREINER-STÖF-FELE, Thomas [DE/DE]; Reichpietschstrasse 33, 04317 Leipzig (DE). STRUHALLA, Marc [DE/DE]; Brockhausstrasse 10, 04229 Leipzig (DE).

(74) Anwalt: UHLEMANN, Henry; Kailuweit & Uhlemann, Bamberger Str. 49, 01187 Dresden (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare nationale Schutzrechtsart*): AE, AG, AL,

AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*soweit nicht anders angegeben, für jede verfügbare regionale Schutzrechtsart*): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht
- vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 14. Juli 2005

Zur Erklärung der Zwei-Buchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FROM THE SELECTION OF BIOMOLECULES FROM BIOMOLECULE VARIANT LIBRARIES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUR SELEKTION VON BIOMOLEküLEN AUS VARIANTEN-BIBLIOTHEKEN VON BIOMOLEküLEN

(57) Abstract: The invention relates to a method from the selection of biomolecules from variant libraries, in particular of biocatalytically active biomolecules, comprising the steps: a) production of a variant library, b) division of the variant library into a number of compartments, each of which is smaller than the total number of variants in the variant library by a factor of at least 10, c) production and testing of the biomolecules in the individual compartments for a particular property, for example, a bio-catalytic activity, d) selection of at least one compartment in which there are biomolecules fulfilling the desired properties, e) division of the partial library contained in the selected compartment into further compartments and f) n-fold repetition of the steps c) to e) until each compartment has only one variant of the gene sequence coding for the biomolecule. In contrast to established methods which comprise mutagenesis and selection steps, said method starts with a large library in which the desired variants are contained from the outset.

WO 2005/040376 A3

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Selektion von Biomolekülen aus Varianten-Bibliotheken, insbesondere von biokatalytisch aktiven Biomolekülen, mit den Schritten: a) Herstellung einer Varianten-Bibliothek, b) Aufteilung der Varianten-Bibliothek in eine Anzahl von Kompartimenten, die mindestens um einen Faktor kleiner ist, als die Anzahl der in der Varianten-Bibliothek enthaltenen Varianten, c) Produktion und Test der in den einzelnen Kompartimenten enthaltenen Biomoleküle auf eine bestimmte Eigenschaft, z. B. eine biokatalytische Aktivität, d) Auswahl mindestens eines Kompartiments, in dem Biomoleküle enthalten sind, welche die gewünschten Eigenschaft erfüllen, e) Aufteilung der in dem ausgewählten Kompartiment enthaltenen Teilbibliothek in weitere Kompartimente und f) n-faches Wiederholen der Schritte c) bis e) bis in jedem Kompartiment nur noch maximal eine Variante der für das Biomolekül codierenden Gensequenz enthalten ist. Gegenüber etablierten Verfahren, die Mutagenese- und Selektionsschritte enthalten, wird im erfindungsgemäßen Verfahren von einer grossen Bibliothek ausgegangen, die von vornherein die gewünschte Variante enthält.